Research Article

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวพื้นเมืองไทย

มัชฌิมา นามมูลน้อย[1], บังอร ศรีพานิชกุลชัย[2], จิรวัฒน์ สนิทชน[3], ศรัญญา ตันติยาสวัสดิกุล[2,4]*

[1]นักศึกษาบัณฑิตศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์สุขภาพ
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[3]ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[4]สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

***ติดต่อผู้นิพนธ์:** ผศ.ดร.ศรัญญา ตันติยาสวัสดิกุล สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002 อีเมล์: sarunyat@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวพื้นเมืองไทย

มัชฌิมา นามมูลน้อย[1], บังอร ศรีพานิชกุลชัย[2], จิรวัฒน์ สนิทชน[3], ศรัญญา ตันติยาสวัสดิกุล[2,4]*

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2566; 19(2) : 75-89

รับบทความ: 4 มกราคม 2566 **แก้ไขบทความ:** 29 เมษายน 2565 **ตอบรับ:** 8 มิถุนายน 2566

ข้าวพื้นเมือง (*Oryza sativa* L.) คือ ข้าวสายพันธุ์ดั้งเดิมที่มีการปลูกในท้องถิ่น แต่ยังขาดข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการของข้าวและงานวิจัยสนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ได้มากกว่าการรับประทาน **วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในข้าวพื้นเมือง จำนวน 9 สายพันธุ์ และศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ **วิธีการศึกษา:** ศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในข้าวพื้นเมือง และคัดเลือกข้าวสองสายพันธุ์ไปแช่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น, 50% เอทานอล, 50% เอทานอลผสมกรดไฮโดรคลอริค 0.1% และ 99% เอทานอล และศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส รวมถึงความปลอดภัยของสารสกัดต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ **ผลการวิจัย:** ข้าวทั้ง 9 สายพันธุ์มีคุณค่าทางโภชนาการสูงในด้านสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันและเยื่อใยหยาบ และยังพบว่าข้าวเหล่านี้มีศักยภาพเป็นแหล่งเสริมแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิด ได้แก่ ข้าวเหนียวดำมังเป็นแหล่งเสริมแคลเซียม ข้าวเมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งเสริมฟอสฟอรัสและทองแดง ข้าวทับทิมชุมแพเป็นแหล่งเสริมเหล็ก ผลการศึกษาพบว่า การสกัดข้าวเหนียวดำมังด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอลในสภาวะกรดให้ปริมาณฟีนอลิกรวม (629.27±6.56 mg GAE/g) ฟลาโวนอยด์รวม (463.59±0.83 mg CE/g) แอนโทไซยานินรวม (517.10±9.49 mg/100g) และปริมาณสาร Cyanidin-3-O-glucoside สูงที่สุด (0.16 mg/g) ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ซึ่งมีค่า IC50 เท่ากับ 19.25±0.05 µg/mL นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในช่วงความเข้มข้น 0.125-100 µg/mL และไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ในช่วงความเข้มข้น 1-1000 µg/mL **สรุปผลการวิจัย:** ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของข้าวพื้นเมืองที่สามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่อาจมีผลบวกต่อสุขภาพและเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เวชสำอาง นำไปสู่การเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบและการขยายผลในเชิงพาณิชย์ต่อไป

คำสำคัญ: ข้าวพื้นเมือง, คุณค่าทางโภชนาการ, แอนโทไซยานิน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, การสกัด

Study of nutritional values and biological activities of Thai indigenous rice

Matchima Nammoonnoi[1], Bungorn Sripanidkulchai[2], Jirawat Sanitchon[3], Sarunya Tuntiyasawasdikul[2,4]*

[1]Graduate student in Master of Science Program in Pharmaceutical Chemistry and Natural
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
[2]Center for Research and Development of Herbal Health Products, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
[3]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002
[4]Department of Pharmacognosy and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

***Corresponding author:** Asst.Prof.Sarunya Tuntiyasawasdikul, Department of Pharmacognosy and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002 E-mail: sarunyat@kku.ac.th

Abstract

Study of nutritional values and biological activities of Thai indigenous rice

Matchima Nammoonnoi[1], Bungorn Sripanidkulchai[2], Jirawat Sanitchon[3], Sarunya Tuntiyasawasdikul[2,4*]

IJPS, 2023; 19(2) : 75-89

Received: 4 January 2023 **Revised:** 29 April 2023 **Accepted:** 8 June 2023

Indigenous rice (*Oryza sativa* L.) is a traditional rice that is grown locally, but there is still a lack of information on the nutritional value of rice and research supports their benefits beyond eating. **Objectives:** To study the nutritional values and biological compounds in nine indigenous rice varieties and to study the effect of solvent on the yield of active compounds extraction. **Method:** The total phenolic compounds and free radical scavenging activity by DPPH assay of nine indigenous rice were determined. Select two variety of rice to macerate in different solvents including distilled water, 50% ethanol, 50% ethanol with 0.1% Hhydrochloric acid, and 99% ethanol. These extracts were determined free radical scavenging activity by DPPH assay, tyrosinase inhibition, and safety on keratinocytes. **Results:** All varieties of rice contain a high nutrition in terms of their constituent nutrients, including carbohydrates, proteins, fats and fibers. It was also found that these rice has potential as a source of many essential minerals, for example, Neaw Dum Hmong rice is a source of calcium. Maled Fai rice is a source of phosphorus and copper. Tubtim Chumphae Rice is a source of iron. The results showed that the 50% ethanolic extract in acid condition of Neaw Dum Hmong rice showed the highest amount of total phenolic content (629.27±6.56 mg GAE/g), total flavonoids (463.59±0.83 mg CE/g), total anthocyanins (517.10±9.49 mg/100g), and Cyanidin-3-O-glucoside (0.16 mg/g), consistent with their antioxidant activity when using DPPH assay with IC50 of 19.25±0.05 µg/mL. Moreover, it has a potential to inhibit tyrosinase in the range of 0.125-100 µg/mL and showed no skin toxicity on keratinocyte cells in the range of 1-1000 µg/mL. **Conclusion:** The obtained data show the potential of indigenous rice varieties that they can be used as a component in product development that may have positive effects on health and as an ingredient in cosmeceutical products, leading to an increase in the value of raw materials and further commercialization.

Keywords: Indigenous rice, nutritional values, anthocyanin, antioxidant, extraction

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชที่สำคัญอันดับหนึ่งของประเทศไทย นอกจากจะเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้เกษตรกรแล้ว ยังเป็นพืชที่ทำให้ประเทศมีความมั่นคงทางด้านอาหาร มีความเกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตของคนไทยในเชิงสังคมวัฒนธรรม ประเพณี ข้าวเป็นแหล่งอาหารที่ให้พลังงานสำคัญแก่ร่างกาย และมีคุณค่าในด้านโภชนาการ ประกอบด้วยกลุ่มสารปฐมภูมิ (primary metabolites) เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เส้นใย วิตามิน และเกลือแร่จำเป็นหลายชนิด และยังมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์รายงานว่าพบกลุ่มสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) หรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ที่ก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค ซึ่งมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ (Sompong *et al.*, 2011) มีรายงานวิจัยก่อนหน้าพบว่า สารสกัดจากข้าวมีสีจะมีฤทธิ์เหนือกว่าสารสกัดจากข้าวที่ไม่มีสีในด้านคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงกว่าและมีรงควัตถุหลากหลายชนิด (Nam *et al.*, 2006; Finocchiaro *et al.*, 2010) เช่น สารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Gong *et al.*, 2017; Sripanidkulchai *et al.*, 2022) นอกจากนี้ความหลากหลายของสีเมล็ด ทั้งข้าวแดง ข้าวน้ำตาล และข้าวดำ ส่งผลให้มีสารที่สกัดแยกได้จากข้าวแตกต่างกัน เช่น ข้าวที่มีสีดำจะมีส่วนประกอบหลักเป็นสารแอนโทไซยานิน เช่น cyanidine-3-O-glucoside (C3G) และ peonidin-3-O-β-D-glucoside (P3G) และข้าวสีแดงจะมีโปรแอนโทไซยานิดินสูง (Pereira-Caro *et al.*, 2013; Goufo and Trindade, 2014) โดยสารสำคัญที่กล่าวมานี้ล้วนมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Maisuthisaku and Changchub, 2014) ต้านการอักเสบ (Kitisin *et al.*, 2015) และกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Sripanidkulchai *et al.*, 2022) มีรายงานว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวหอมดอกมะลิ 105 ถึง 1.28 เท่า เนื่องจากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระชนิดแอนโทไซยานินสูง (Sueaman *et al.*, 2019) ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและโภชนาการของข้าวโดยเฉพาะข้าวพื้นเมืองในแต่ละพื้นที่จึงมีความสำคัญและจำเป็นเพื่อให้ได้ข้อมูลนำไปสู่การต่อยอดในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพที่หลากหลาย อย่างไรก็ตามการสกัดข้าวเพื่อให้ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์สูงนั้นมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง จากงานวิจัยก่อนหน้าพบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวสีดำ คือ เอทานอล 50.78% และกรดไฮโดรคลอลิค (HCl) 0.60 % ซึ่งได้สารแอนโทไซยานินสูงที่สุด นอกจากนี้มีการใช้กรดร่วมกับตัวทำละลายในการสกัด เช่น น้ำ เอทานอล หรือเมทานอล เนื่องจากแอนโทไซยานินมีความคงตัวสูงที่ pH ต่ำ โดยกรดที่นิยมใช้ร่วมกับตัวทำละลาย เช่น กรดไฮโดรคลอริก และกรดฟอร์มิก เป็นต้น (Bae *et al.*, 2017; Likhitwitayawuid, 2006)

ในปัจจุบันข้าวมีสีได้รับความสนใจในการนำมาศึกษาฤทธิ์ทางผิวหนังมากขึ้น เพื่อมุ่งเน้นในการนำสารสกัดข้าวมาใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในเครื่องสำอาง เนื่องจากมีรายงานแสดงให้เห็นว่าข้าวมีสีนั้นมีศักยภาพในการช่วยปกป้องเซลล์ผิวหนัง รวมทั้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งการสลายตัวของเส้นใยคอลลาเจน และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์คอลลาเจนเนส นอกจากนี้ ยังมีความปลอดภัย ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (Marto *et al.*, 2018; Teeranachaideekul *et al.*, 2018) ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวพื้นเมืองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่นส่งเสริมให้เกษตรกรในภูมิภาคปลูก ซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถทดแทนจุดอ่อนด้านสภาพแวดล้อมและผลผลิต จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้ามีสี 4 สายพันธุ์ (มะลิโกเมน ทับทิมชุมแพ เจ้าดำมัง เมล็ดฝ้าย) ข้าวเจ้าขาว 1 สายพันธุ์ (ดอกพะยอม) ข้าวเหนียวมีสี 1 สายพันธุ์ (เหนียวดำมัง) ข้าวเหนียวขาว 3 สายพันธุ์ (พระยาลืมแกง ชิวเกลี้ยง สกลนคร) เพื่อสนับสนุนการนำข้าวพื้นเมืองไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายมากขึ้น จากนั้นจะคัดเลือกข้าวที่มีปริมาณสารสำคัญสูงไปหาวิธีสกัดที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolic) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoids) สารกลุ่มแอนโทไซยานินรวม (total anthocyanin) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส รวมถึงศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังเพาะเลี้ยง เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลผิว นับเป็นการช่วยอนุรักษ์และเพิ่มมูลค่าให้แก่ข้าวพื้นเมืองต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาลักษณะทางกายภาพของข้าวพื้นเมือง

คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ได้รับความอนุเคราะห์จากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเจ้ามีสี 4 สายพันธุ์ (มะลิโกเมน ทับทิมชุมแพ เจ้าดำมัง เมล็ดฝ้าย) ข้าวเจ้าขาว 1 สายพันธุ์ (ดอกพะยอม) ข้าวเหนียวมีสี 1 สายพันธุ์ (เหนียวดำมัง) ข้าวเหนียวขาว 3 สายพันธุ์ (พระยาลืมแกง ชิวเกลี้ยง สกลนคร) ซึ่งข้าวพื้นเมืองที่นำมาศึกษาเป็นข้าวที่ปลูกที่ ต.หนองแซง อ.บ้านแฮด จ. ขอนแก่น เก็บเกี่ยวในช่วงปลายตุลาคมถึงต้นพฤศจิกายนของปีที่ทำการศึกษา โดยนำเมล็ดข้าวมาศึกษาลักษณะทางกายภาพโดยการวัดขนาดด้วยเครื่องมือ vernier caliper รายงานขนาดเป็นความกว้างและความยาวของเมล็ด ชั่งน้ำหนักของเมล็ดข้าวด้วยเครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, Switzerland) คำนวณหาน้ำหนักเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวัดสีของข้าวตามระบบ L*a*b* ด้วยเครื่องวัดความเข้มที่คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น (Hunterlab, Reston, USA) จำนวนตัวอย่างที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 10 ตัวอย่าง

2. การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมือง

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำเมล็ดข้าวพื้นเมืองทั้ง 9 สายพันธุ์ มาแยกเปลือกนำมาบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh (150 μm) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

2.2 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณแร่ธาตุ

นำข้าวพื้นเมืองไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการที่ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เยื่อใยหยาบ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และพลังงานรวม นอกจากนี้ นำไปตรวจวัดแร่ธาตุจำเป็น (สังกะสีและเหล็ก) และการปนเปื้อนของโลหะหนักด้วยเครื่องอะตอมมิกแอปซอบชั่นสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrophotometer) (Wasim *et al.*, 2019)

2.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolics)

ทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu (Sripanidkulchai and Fangkrathok, 2014) โดยเตรียมตัวอย่างผงข้าวที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมลงจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ปริมาตร 20 µL จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (Loba Chemie Pvt. Ltd., India) 100 µL และสารละลาย 7% โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 80 µL ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 min นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 760 nm (จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมผงข้าว (mg GAE/g)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH assay

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH assay (ดัดแปลงจาก Likhitwitayawuid *et al.*, 2006) เตรียมผงข้าวที่ความเข้มข้นแตกต่างกันทำการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม จากนั้นดูดสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 100 µL ลงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 µL (เมทานอลเป็นสารละลายควบคุม) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 min วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm (จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3) หลังจากนั้นนำไปคำนวณหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) โดยคำนวณจากสมการที่ (2) และคำนวณหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC50) ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50

$$\% \text{ inhibition} = (Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control} \times 100 \quad \textit{สมการที่ (2)}$$

โดย $Abs_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม

Abs_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3. การเตรียมสารสกัด

คัดเลือกผงข้าว 2 สายพันธุ์ไปสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น, 50% เอทานอล, 50% เอทานอลผสม HCl 0.1% และ 99% เอทานอล โดยวิธีการแช่สกัด (maceration) โดยนำผงข้าวแช่ในตัวทำละลาย อัตราส่วน 1:3 w/v แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (WhatmanTM No.1) และนำส่วนใสที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator) และนำไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เก็บในภาชนะปิดสนิท ป้องกันแสงและความชื้น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

4. การวัดปริมาณสารสำคัญในสารสกัดข้าว

4.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (total phenolics)

ทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดข้าวโดยวิธี Folin-Ciocalteu ตามที่แสดงในข้อ 2.3 และคำรายงานค่าเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g extract)

4.2 การทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoids)

ทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์รวม (Zhao *et al.*, 2018) โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัดข้าวที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมลงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ปริมาตร 100 µL จากนั้นเติม 5% โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$) ปริมาตร 20 µL ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 10 min จากนั้นเติม 10% อลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ปริมาตร 35 µL ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 6 min นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทที่ความยาวคลื่น 430 nm (จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3) คำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมโดยแทนค่าการดูดกลืนแสงลงในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานคาเทชิน รายงานเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อกรัมสารสกัด (mg CE/g extract)

4.3 การวัดปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวม (total anthocyanins)

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมด้วยวิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-differential) ดัดแปลงจากวิธีของ Giusti and Wrolstad (2001) ซึ่งเป็นวิธีที่พัฒนาจากการที่โครงสร้างของแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไปได้ตามการเปลี่ยนแปลงค่า pH ทำให้การดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไป โดยเตรียมสารมาตรฐาน C3G หรือสารสกัดข้าวโดยเจือจางจากสารละลายจากสารสกัดข้าวความเข้มข้น 1 mg/mL (20 µL) ผสมสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.025 M (pH เท่ากับ 1) 2 ml และโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) 0.4 M (pH เท่ากับ 4.5) 2 ml โดยทำการทดสอบแต่ละตัวอย่าง 3 ครั้ง บ่มในที่มืด 30 min นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm (จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3) เมื่อได้ค่าทั้งหมด นำไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินรวม ดังสมการที่ (1) รายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมแอนโทไซยานินรวมต่อ 100 กรัมสารสกัด (mg/100 g extract)

ปริมาณแอนโทไซยานินรวม (mg/L) = $(A \times MW \times DF \times 10^3)/(\varepsilon \times 1)$

สมการที่ (1)

โดย $A = (A_{520-700})$ pH 1.0 - $(A_{520-700})$ pH 4.5

MW = มวลโมเลกุลของ C3G (449.2 g/mol)

DF = dilution factor

ε = โมลาร์แอบซอบติวิตี้ (Molar absorptivity) ของ C3G (26,900)

4.4 การวัดปริมาณสารสำคัญ C3G ในสารสกัดข้าวโดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC)

วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ C3G โดยใช้เทคนิค HPLC (Agilent 1200 series, Germany) ซึ่งประกอบด้วยคอลัมน์ชนิด Agilent hypersil ODS C18 ขนาด 4.6×250 mm ขนาดอนุภาค 5 µm และวัฏภาคเคลื่อนประกอบด้วยกรดอะซิติก 0.5% ในอะซีโตไนไตรล์ (A) และกรดอะซิติก 0.5% ในน้ำกำจัดไอออน (B) ที่อัตราการไหล 1 mL/min ใช้ระบบชนิดเกรเดียน ดังนี้: 0-5 min: 100% สารละลาย B; 10-18 min: 95% สารละลาย B; 18-25 min: 90% สารละลาย B; 30–35 min: 85% สารละลาย B จนครบเวลา 40 min ทำงานผสานรวมกับเครื่องกำจัดแก๊สแบบสุญญากาศ ปั๊มควอเทอร์นารีอัตโนมัติ และตัวตรวจจับอาร์เรย์ไดโอด (diode array detector) ที่ความยาวคลื่น 525 nm ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C สำหรับการเตรียมตัวอย่างสารสกัดข้าวและสารมาตรฐาน C3G ทำได้โดยละลายสารตัวอย่างในเมทานอล กรองผ่านฟิลเตอร์ชนิดไนลอนขนาด 0.45 µm แล้วนำมาฉีดเข้าเครื่อง HPLC ปริมาตร 20 µL จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานโดยให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน C3G และแกน y เป็นค่า peak area นำค่า peak area ของพีคที่มี retention time เท่ากับสารมาตรฐาน C3G มาคำนวณโดยการแทนค่าสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างแต่ละชนิด (ดัดแปลงจาก Sripanidkulchai *et al.*, 2022)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH assay

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH assay ตามที่แสดงในข้อ 2.4 เปรียบเทียบค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC50) ของสารสกัดข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานคือ วิตามินซี (Ascorbic acid) และวิตามินอี (Trolox) ซึ่งเตรียมโดยละลายและเจือจางด้วยเอทานอลจนได้ความเข้มข้นในช่วง 1-100 µg/ml

6. การทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibition assay)

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ dopachrome method อาศัยการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเห็ด (Sigma-Aldrich, USA) และสารตั้งต้น Levodopa (L-DOPA) (Sigma-Aldrich, USA) (ดัดแปลงจาก Kolakul and Sripanidkulchai *et al.*, 2017) วัดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ความยาวคลื่น 475 nm โดยผสม 20 mM phosphate buffer saline (pH 6.8) ปริมาณ 80 µL และกรดโคจิก (positive control) หรือสารสกัดข้าว ปริมาณ 40 µL และเอนไซม์ไทโรซิเนส (250 unit/mL) ปริมาณ 40 µL ในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ผสมด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 min จากนั้นเติม 1 mM L-DOPA ปริมาณ 40 µL นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C จนครบ 1 min วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3) และคำนวณหาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้สมการที่ (3)

Tyrosinase inhibition (%) = [(A0-At)/A0] x 100 สมการที่ (3)

โดย A0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายควบคุม

At คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานหรือตัวอย่าง

7. การศึกษาความเป็นพิษต่อเคอราติโนไซต์

7.1 การเลี้ยงเคอราติโนไซต์

เพาะเลี้ยงเคอราติโนไซต์ (Normal Human Primary Epidermal Keratinocytes from Neonatal Foreskin; NHEK) จากบริษัท ATCC เป็น primary cells (ATCC® PCS200010™) ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิดดีเอ็มอีเอ็ม (Dulbecco's modified Eagle's medium; DMEM) (HyClone, USA) ซึ่งมีซีรั่มจากลูกวัวในครรภ์ (fetal bovine serum; FBS) ความเข้มข้นร้อยละ 10 และยาปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (Streptomycin sulfate) 100,000 µg/mL และแอล กลูตามีน (L-glutamine) ความเข้มข้นร้อยละ 1 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในตู้อบที่อุณหภูมิ 37 °C ภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5

7.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดข้าวต่อเซลล์ผิวหนัง

นำเซลล์ NHEK ถ่ายลงในจานเลี้ยงเซลล์แบบ 96 หลุม ในแต่ละหลุมมีเซลล์จำนวน $1x10^6$ cells/mL (100 µL) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด DMEM ที่มีซีรั่ม และเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 hr จากนั้นเปลี่ยนเป็นสารสกัดข้าวที่ละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ที่เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีซีรั่ม โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO เท่ากับร้อยละ 0.2 และมีความเข้มข้นของสารสกัดข้าวเท่ากับ 1, 5, 25, 125, 250, 500 และ 1000 µg/mL และกลุ่มควบคุม (100 µL) ซึ่งเลี้ยงเซลล์ในสภาวะเดียวกับกลุ่มทดลองแต่ปราศจากสารสกัดข้าว โดยเริ่มทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดข้าวโดยวัดผลการทดสอบที่เวลา 24 hr ภายหลังจากหยดสาร จากนั้นเติมสาร 3-[4, 5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.6 mg/mL หลุมละ 50 µL บ่มในตู้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 hr ในที่มืด จากนั้นละลายผลึกของฟอร์มาซานที่เซลล์สร้างขึ้นจากสารละลาย MTT ในแต่ละหลุมของจานเลี้ยงด้วย DMSO แล้วนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่นแสง 570 nm ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้แสดงถึงปริมาณการอยู่รอดของเซลล์ (viability) โดยรายงานผลเป็นร้อยละความอยู่รอดของเซลล์ (% cell viability) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัดข้าว (Mosmann, 1983) โดยใช้จำนวนตัวอย่างเท่ากับ 3

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis pf variance, ANOVA) ของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละข้อมูลด้วย วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมือง

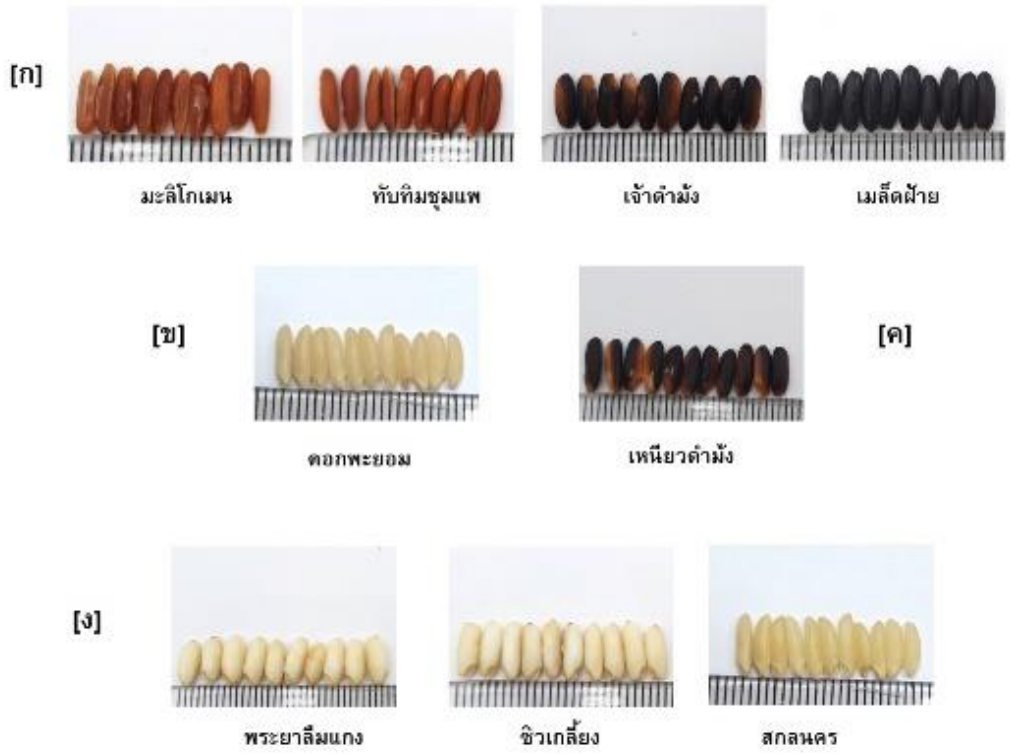
1.1 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของข้าวพื้นเมือง

ศึกษาลักษณะของเม็ดข้าวจากสีที่มองด้วยตาเปล่า ความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง พบว่า ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีขนาดความยาวอยู่ในช่วง 7.19-8.52 mm ความกว้างอยู่ในช่วง 2.23-2.91 mm และน้ำหนักอยู่ในช่วง 20.09-38.78 mg และเมื่อตรวจวัดสีแบบสามมิติ (L*a*b*) พบว่า ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความเข้มของสีแตกต่างกัน เช่น ข้าวสีขาว สีแดง สีเหลือง และสีม่วง ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

ตารางที่ 1 ชื่อและลักษณะทางกายภาพของข้าวพื้นเมืองที่มีสีในมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่คัดเลือกมาศึกษาจำนวน 9 ชนิด

ลำดับ	ชื่อพันธุ์	รหัส**	ชนิดข้าว	สีข้าวกล้อง	ค่าความเข้มข้นของสี (ระบบ L*a*b*) ข้าวกล้อง			ขนาดของข้าวพื้นเมือง		
					L* ความสว่าง	a* (สีแดง-เขียว)	b* (สีเหลือง-น้ำเงิน)	ยาว (mm)	กว้าง (mm)	น้ำหนัก (mg)
1	มะลิโกเมน	LLR370	ข้าวเจ้า	น้ำตาลแดง	44.74±0.41	9.77±0.30	8.84±0.31	7.26±0.26	2.69±0.07	20.09±1.02
2	ทับทิมชุมแพ	LLR(RD69)	ข้าวเจ้า	น้ำตาลแดง	49.71±1.31	13.68±0.50	10.98±0.59	7.79±0.49	2.69±0.06	20.21±1.56
3	เจ้าดำมัง	ULR019	ข้าวเจ้า	ดำเข้ม	40.38±1.19	2.84±1.15	2.44±0.67	7.62±0.35	2.79±0.25	29.45±1.74
4	เมล็ดฝ้าย	ULR291	ข้าวเจ้า	ดำเข้ม	38.45±0.22	0.55±0.21	1.33±0.20	7.96±0.60	2.81±0.10	25.32±2.24
5	ดอกพะยอม	ULR419	ข้าวเจ้า	ขาวออกเหลือง	66.10±0.15	19.73±0.23	3.89±0.15	8.10±0.52	2.78±0.13	22.15±1.71
6	เหนียวดำมัง	ULR017	ข้าวเหนียว	ดำเข้ม	47.06±1.16	4.91±0.80	3.49±0.42	8.42±0.54	2.74±0.34	32.48±2.44
7	พระยาลืมแกง	ULR243	ข้าวเหนียว	ขาวออกเหลือง	72.89±0.62	22.79±0.34	3.43±0.33	7.96±0.56	2.23±0.26	36.78±2.75
8	ชิวเกลี้ยง	ULR020	ข้าวเหนียว	ขาวออกเหลือง	73.24±0.66	22.19±0.36	3.80±0.12	8.52±0.40	2.68±0.40	32.95±2.84
9	สกลนคร	LLR406	ข้าวเหนียว	ขาวออกเหลือง	70.88±1.33	19.41±0.73	3.20±0.14	8.26±0.28	2.87±0.06	25.83±2.21

LLR = Lowland rice, ULR = Upland rice; ทำการทดลอง 10 ซ้ำ



รูปที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของผงข้าวพื้นเมืองทั้ง 9 สายพันธุ์ ได้แก่ กลุ่มข้าวเจ้ามีสี [ก] กลุ่มข้าวเจ้าขาว [ข] ข้าวเหนียวมีสี [ค] และข้าวเหนียวขาว [ง]

1.2 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมือง ปริมาณแร่ธาตุและปริมาณโลหะหนัก

ข้าวพื้นเมืองทั้ง 9 ชนิด มีคุณค่าทางโภชนาการสูงในด้านสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (75.30-79.77%) โปรตีน (8.21-11.43%) ไขมัน (2.05-3.23%) และเยื่อใยหยาบ (0.38-0.95%) แคลเซียม (0.08-0.22%) ฟอสฟอรัส (0.27-0.46%) และให้พลังงานอยู่ในช่วงประมาณ 3.78-4.12 kcal/g ซึ่งพบว่าข้าวเหนียวจะให้พลังงานสูงกว่าข้าวเจ้า โดยข้าวที่ให้พลังงานสูงสุด ได้แก่ ข้าวสกลนคร (4.12 kcal/g) ซึ่งให้พลังงานสูงกว่าข้าวสายพันธุ์อื่นมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิเคราะห์แร่ธาตุจำเป็น พบว่ามีปริมาณสังกะสี เหล็ก และทองแดง แตกต่างกันในข้าวแต่ละสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 ซึ่งมีศักยภาพเป็นแหล่งเสริมแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิด โดยพิจารณาจากปริมาณแร่ธาตุที่พบสูงนั้นแสดงให้เห็นว่า ข้าวเหนียวดำมังเป็นแหล่งเสริมแคลเซียม ข้าวเจ้าดำมัง ข้าวพระยาลืมแกง และข้าวสกลนครเป็นแหล่งเสริมสังกะสี ข้าวเมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งเสริมฟอสฟอรัสและทองแดง ข้าวทับทิมชุมแพเป็นแหล่งเสริมเหล็ก นอกจากนี้ยังพบว่ามีการปนเปื้อนของโลหะหนัก 3 ชนิด (ตะกั่ว แคดเมียม และสารหนู) ไม่เกินค่ามาตรฐานกำหนด (ตามมาตรฐานการปนเปื้อนโลหะหนักตามประกาศสำนักงานอาหารและยา พ.ศ. 2547 กำหนดให้มีปริมาณตะกั่วไม่เกิน 10 ppm แคดเมียมไม่เกิน 0.3 ppm และสารหนูไม่เกิน 4 ppm)

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของเมล็ดข้าวกล้องข้าวพื้นเมือง 9 ชนิด

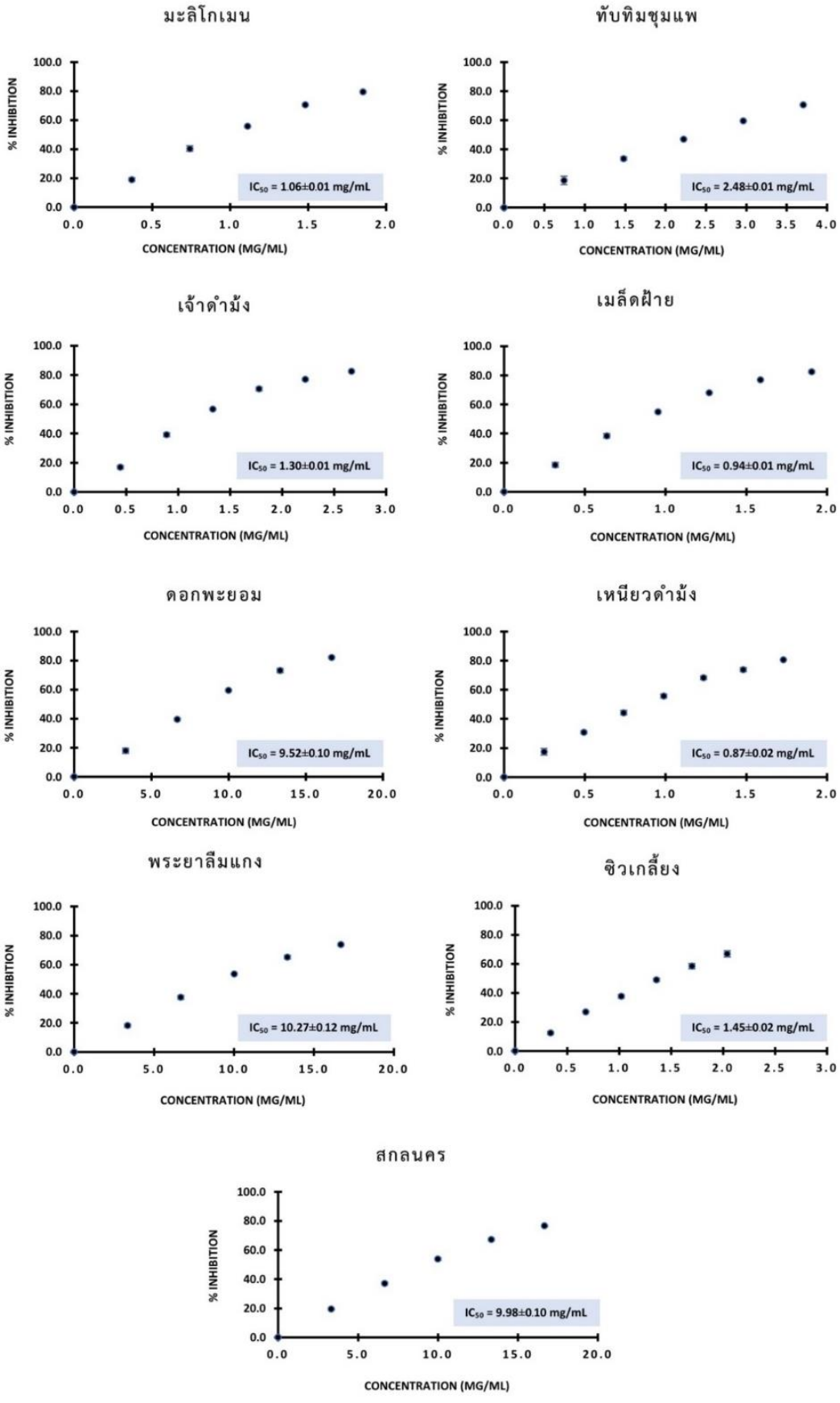
คุณค่าทาโภชนาการ	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9
ความชื้น (%)	11.40	11.06	7.48	7.40	7.53	7.21	7.31	7.63	7.68
เถ้า (%)	1.15	1.31	1.54	1.52	1.40	1.82	1.62	1.55	1.40
โปรตีน (%)	9.03	9.13	10.04	9.49	9.04	9.26	9.67	8.88	8.21
ไขมัน (%)	2.05	2.72	2.80	2.39	2.70	3.23	3.08	3.00	2.41
เส้นใย (%)	0.51	0.48	0.47	0.38	0.53	0.95	0.49	0.60	0.53
คาร์โบไฮเดรต (%)	75.86	75.30	77.58	79.18	78.80	77.73	77.83	78.34	79.77
เถ้าที่ไม่ละลายในกรด(%)	0.08	0.08	0.07	0.08	0.06	0.10	0.06	0.07	0.08
Ca (%)	0.08	0.14	0.10	0.18	0.20	0.22	0.13	0.20	0.13
P (%)	0.27	0.27	0.45	0.46	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Gross energy (GE), Kcal/g	3.78[a]	3.86	3.92	3.96	3.83[b]	3.98	3.94	3.99	4.12[c]

*K1 = มะลิโกเมน; K2 = ทับทิมชุมแพ; K3 = เจ้าดำมัง; K4 = เมล็ดฝ้าย; K5 = ดอกพะยอม; K6 = เหนียวดำมัง; K7 = พระยาลืมแกง; K8 = ชิวเกลี้ยง; K9 = สกลนคร

[a-c]ตัวอย่างที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

1.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมือง

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในผงข้าวพื้นเมืองทั้ง 9 ชนิด พบว่า มีปริมาณฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 0.43-3.64 mg GAE/g โดยข้าวสามสายพันธุ์ที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด ได้แก่ ข้าวเหนียวดำมัง (3.64 mg GAE/g) > ข้าวเมล็ดฝ้าย (2.91 mg GAE/g) > ข้าวมะลิโกเมน (mg GAE/g) ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ ฟีนอลิกในผงข้าวแต่ละสี พบว่าข้าวสีดำมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าข้าวขาวประมาณ 2-8 เท่า และข้าวสีแดงมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าข้าวขาวประมาณ 2-6 เท่า ซึ่งมีความสอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH ซึ่งพบว่า ข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 0.94±0.01 mg/mL และ 0.87±0.02 mg/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า IC50 ในข้าวแต่ละสี พบว่า ข้าวสีดำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าข้าวสีแดงและข้าวขาวประมาณ 2 และ 10 เท่า ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 และตารางที่ 3



รูปที่ 2 ผลทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมืองทั้ง 9 สายพันธุ์

ตารางที่ 3 ปริมาณแร่ธาตุ ปริมาณโลหะหนัก ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างผงข้าวพื้นเมือง 9 ชนิด

ลำดับ	สายพันธุ์	ปริมาณแร่ธาตุ (ppm)			ปริมาณโลหะหนัก (ppm)			ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} (mg/ml)
		สังกะสี (Zn)	เหล็ก (Fe)	ทองแดง (Cu)	ตะกั่ว (Pb)	แคดเมียม (Cd)	สารหนู (As)		
1	มะลิโกเมน	19.14±0.08	6.96±0.06	1.08±0.00	0.70±0.11	0.08±0.01	n.d.	2.51±0.06^{a}	1.06±0.01^{a}
2	ทับทิมชุมแพ	18.84±0.04	16.39±0.01	1.43±0.00	0.40±0.10	0.02±0.00	n.d.	1.14±0.0^{b}	2.48±0.01^{b}
3	เจ้าดำมัง	20.83±0.09	8.41±0.11	2.99±0.01	1.06±0.02	0.14±0.01	n.d.	2.95±0.11^{c}	1.30±0.0^{c}
4	เมล็ดฝ้าย	18.05±0.03	8.85±0.05	3.28±0.01	1.12±0.11	0.13±0.01	n.d.	1.20±0.06^{d}	0.94±0.01^{d}
5	ดอกพะยอม	17.44±0.05	6.24±0.02	2.37±0.03	1.36±0.07	0.21±0.00	n.d.	0.53±0.03	9.25±0.10^{e}
6	เหนียวดำมัง	18.95±0.06	5.61±0.06	3.17±0.02	0.60±0.06	0.07±0.01	n.d.	3.64±0.15^{e}	0.87±0.02^{f}
7	พระยาลืมแกง	20.42±0.09	5.29±0.09	3.23±0.01	1.43±0.04	0.16±0.01	n.d.	0.54±0.04	10.27±0.12^{g}
8	ชิวเกลี้ยง	19.85±0.03	7.56±0.05	2.61±0.01	0.94±0.04	0.08±0.01	n.d.	0.43±0.01^{f}	1.45±0.02^{h}
9	สกลนคร	20.83±0.09	5.27±0.11	3.20±0.02	0.43±0.12	0.07±0.00	n.d.	0.53±0.03	9.98±0.10^{i}

n.d.: Not detected

*ตัวอย่างที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$); ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2. ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดข้าวพื้นเมือง

2.1 ปริมาณสารสำคัญ

จากการทดสอบสารสำคัญเบื้องต้น ได้เลือกข้าว 2 สายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมาสกัด ได้แก่ ข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมัง โดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น, 50% เอทานอล, 50% เอทานอลผสมกรด HCl และ 99% เอทานอล ผลการทดลองพบว่า การสกัดด้วยสารละลาย 50% เอทานอลให้ร้อยละสิ่งสกัดสูงที่สุด (ตารางที่ 4) ซึ่งข้าวทั้งสองชนิดมีร้อยละสิ่งสกัดใกล้เคียงกัน (ข้าวเหนียวดำมังเท่ากับ 5.19±0.57% และข้าวเมล็ดฝ้ายเท่ากับ 4.17±0.18%) อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาปริมาณสารสำคัญที่พบในสารสกัดข้าวทั้งสองชนิด พบว่า การสกัดข้าวด้วย 50% เอทานอลในสภาวะกรดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น และสารสกัดข้าวเหนียวดำมังมีปริมาณสารสำคัญสูงกว่าข้าวเมล็ดฝ้าย คือ ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 629±6.56 mg GAE/g ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 463.59±0.83 mg CE/g และปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ 517.10±9.49 mg/100 g ซึ่งสูงกว่าข้าวก่อนนำมาสกัดประมาณ 20-200 เท่า และเมื่อนำไปตรวจหาปริมาณสาร C3G ด้วยวิธี HPLC พบว่าการสกัดด้วย 50%เอทานอลในสภาวะกรดให้ปริมาณ C3G สูงที่สุด โดยพบว่าสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและสารสกัดข้าวเหนียวดำมังมีปริมาณ C3G เท่ากับ 0.16±0.00 และ 0.16±0.00 mg/g extract ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าวิธีสกัดที่ให้ปริมาณสารสำคัญมากที่สุด คือ การสกัดด้วย 50%เอทานอลในสภาวะกรด จึงได้เลือกสารสกัดดังกล่าวไปทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4 ร้อยละปริมาณสิ่งสกัด ปริมาณสารสำคัญ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวทั้งสองชนิด

สายพันธุ์	วิธีสกัด	Yield (%)	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg CE/g)	ปริมาณแอนโทไซยานินรวม (mg/100g)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} (µg/ml)	ปริมาณ C3G (mg/g)
เมล็ดฝ้าย	น้ำกลั่น	3.21±0.15	357.80±6.32^{a}	163.92±9.80^{a}	98.52±6.02^{a}	153.93±0.55^{a}	0.04±0.00^{a}
	50% เอทานอล	5.49±0.68	537.67±5.34^{b}	352.21±1.18^{b}	178.67±4.41^{b}	41.51±0.26^{b}	0.11±0.00^{b}
	50%เอทานอล+HCl	4.17±0.18	623.78±4.16^{c}	388.58±1.95^{c}	249.37±9.64^{c}	25.88±0.75^{c}	0.16±0.00^{c}
	99% เอทานอล	2.36±0.36	253.41±3.72^{d}	133.67±5.43^{d}	25.04±1.67^{d}	166.46±1.28^{d}	0.00±0.01^{d}
เหนียวดำมัง	น้ำกลั่น	3.41±0.14	405.79±4.34^{e}	215.31±2.65^{e}	123.90±7.07^{e}	113.90±0.73^{e}	0.05±0.00^{e}
	50% เอทานอล	6.10±0.29	567.44±6.56^{f}	379.8±1.68^{f}	379.06±6.02^{f}	33.43±0.47^{f}	0.13±0.00^{f}
	50%เอทานอล+HCl	5.19±0.53	629.27±6.56^{g}	463.59±0.83^{g}	517.10±9.49^{g}	19.25±0.05^{g}	0.16±0.00^{c}
	99% เอทานอล	2.79±0.36	314.16±5.52^{h}	157.52±2.06^{h}	65.12±4.41^{h}	149.70±0.11^{h}	0.04±0.0^{g}
วิตามินซี	-	-	-	-	-	3.14±0.01^{i}	-
วิตามินอี	-	-	-	-	-	5.06±0.03^{j}	-

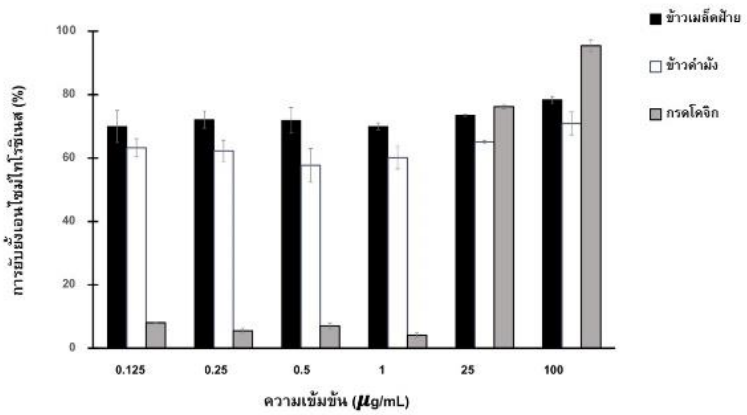
$^{a-j}$ ตัวอย่างที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$); ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวพื้นเมือง

เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 25.88±0.75 µg/mL และ 19.25±0.05 µg/mL ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารสำคัญฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานินที่พบในสารสกัดข้าวทั้งสองสายพันธุ์ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่าสารสกัดข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซี ประมาณ 9 เท่า ซึ่งวิตามินซีมีค่า IC50 เท่ากับ 3.14±0.01 µg/mL และน้อยกว่าวิตามินอีประมาณ 6 เท่า ซึ่งวิตามินอีมีค่า IC50 เท่ากับ 5.06±0.03 µg/mL

2.3 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

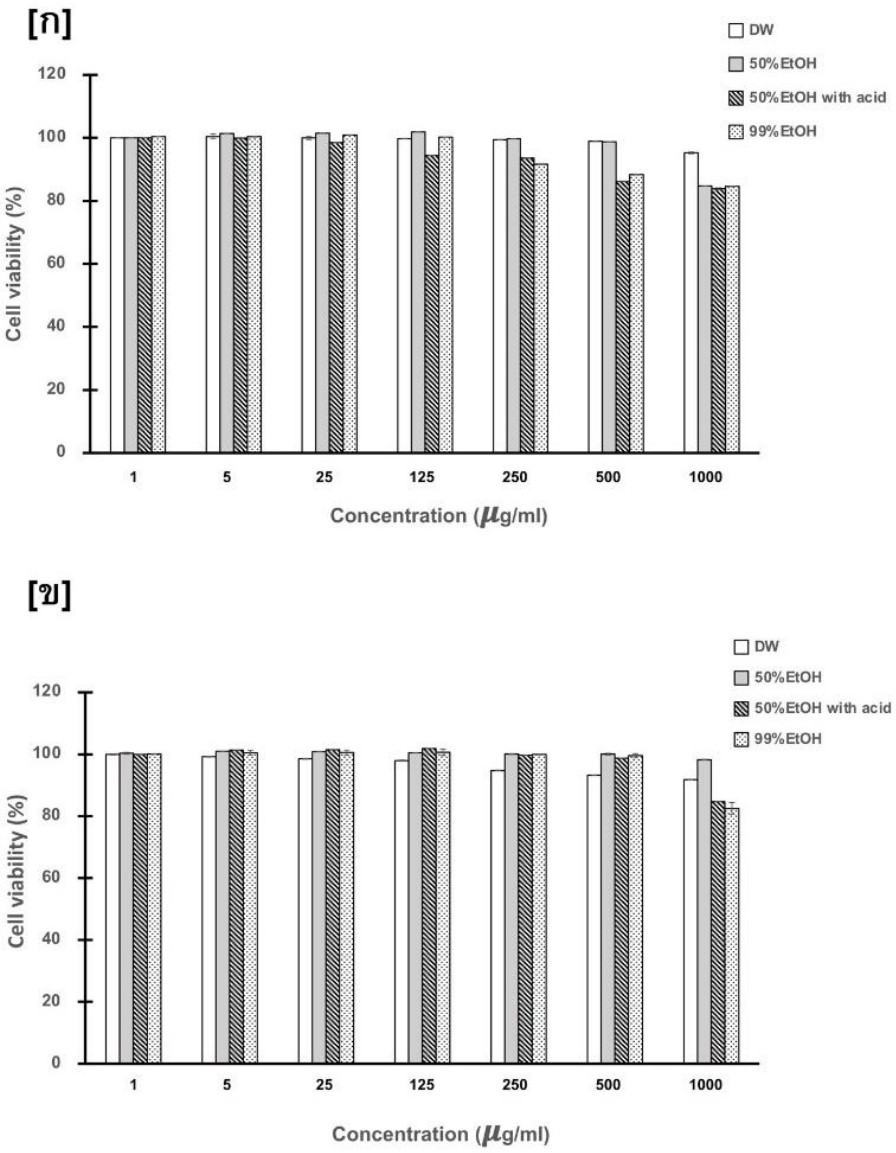
จากผลการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่า สารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ทุกช่วงความเข้มข้น (0.125-100 µg/mL) โดยสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากกว่าสารสกัดข้าวเหนียวดำมัง ดังแสดงในรูปที่ 3 และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก พบว่า สารสกัดข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์ดีกว่ากรดโคจิกเมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นในช่วง 25-100 µg/mL กรดโคจิกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าสารสกัดทั้งสองประมาณ 1.2 เท่า



รูปที่ 3 ผลการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังที่ความเข้มข้น 0.125-100 µg/mL

3. ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดข้าวเหนียวดำมังและข้าวเมล็ดฝ้ายต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ ซึ่งเป็นเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบหลักในชั้นผิวหนัง พบว่า สารสกัดข้าวทั้งสองชนิดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ตั้งแต่ความเข้มข้น 1-500 µg/mL อย่างไรก็ตาม เมื่อใช้ความเข้มข้นในขนาด 1000 µg/mL เริ่มพบการตายของเซลล์เกิดขึ้น โดยพบว่าสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและสารสกัดข้าวเหนียวดำมังมีเปอร์เซ็นต์เซลล์ที่ยังมีชีวิตเท่ากับ 83.85% และ 84.70% ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 ผลความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ของสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้าย (ก) และสารสกัดเหนียวดำมัง (ข) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ในการศึกษานี้ได้นำข้าวพื้นเมืองที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ส่งเสริมให้เกษตรกรในภูมิภาคปลูก ซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ ที่สามารถทดแทนจุดอ่อนด้านสภาพแวดล้อมและผลผลิต จำนวน 9 สายพันธุ์ มาทดสอบคุณค่าทางโภชนาการและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษาพบว่า ข้าวทั้ง 9 สายพันธุ์ มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่นเดียวกับที่ใช้บริโภคโดยทั่วไปในด้านสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เยื่อใยหยาบ และพลังงาน (Posoongnoen and Thummavongsa, 2018) และยังพบว่าข้าวเหล่านี้มีศักยภาพเป็นแหล่งเสริมแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิด ได้แก่ ข้าวเหนียวดำมังเป็นแหล่งเสริมแคลเซียม ข้าว

เมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งเสริมฟอสฟอรัสและทองแดง ข้าวทับทิมชุมแพเป็นแหล่งเสริมเหล็ก สำนักโภชนาการ กระทรวงสาธารณสุข ได้กำหนดปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (Recommended Dietary Allowances; RDAs) สำหรับคนไทยที่มีอายุ 6 ปีขึ้นไป ควรได้รับพลังงานวันละ 2000 kcal โดยมีสัดส่วนสารอาหารจากคาร์โบไฮเดรต (45-65%) โปรตีน (10-15%) ไขมัน (20-35%) และควรเลือกชนิดคาร์โบไฮเดรตที่มาจากข้าวที่ไม่ขัดสี เนื่องจากมีใยอาหาร ช่วยเพิ่มปริมาณอาหาร ทำให้ได้รับพลังงานจากอาหารน้อยลง และยังช่วยให้อิ่มนาน ทั้งนี้การรับประทานข้าวยังได้รับวิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็นหลายชนิด ซึ่งปริมาณวิตามินและแร่ธาตุอ้างอิงที่ควรได้รับต่อวัน เช่น แคลเซียม (800 mg) เหล็ก (15 mg) ฟอสฟอรัส (800 mg) ทองแดง (2 mg) เป็นต้น (Bureau of Nutrition, 2020)

เมื่อนำข้าวทั้ง 9 สายพันธุ์มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (IC50 เท่ากับ 0.94±0.01 และ 0.87±0.02 mg/mL ตามลำดับ) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกรวมในผงข้าว (ตารางที่ 3) ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Yodmanee และคณะ (2011) รายงานว่าข้าวมีสี 8 สายพันธุ์ที่ปลูกในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งแบ่งเป็นข้าวสีม่วงเข้ม ข้าวสีแดง และข้าวสีน้ำตาล โดยใช้เมล็ดข้าวที่ผ่านการกำจัดเปลือกมาศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ เช่น โปรตีน ไขมัน และเส้นใย พบว่าในข้าวทุกสายพันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 6.63-8.47%, 1.44-3.47% และ 0.16-0.35% ตามลำดับ และยังพบว่าข้าวสีม่วงเข้มมีสารกลุ่มฟีนอลิกสารกลุ่มแอนโทไซยานิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมล็ดข้าวสีแดง ข้าวสีน้ำตาลและข้าวสีขาว (Yodmanee *et al.*, 2011; Pramai *et al.*, 2015) ดังนั้นความสัมพันธ์ของสีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี อาจสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ในการเลือกพันธุ์ข้าวโดยอ้อม เพื่อเป็นประโยชน์หรือในการคัดแยกพันธุ์ข้าวเบื้องต้นได้ ซึ่งข้าวพันธุ์เมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังเป็นข้าวไร่ที่มีสีม่วง/ดำเข้ม ซึ่งหมายถึงข้าวที่มีการปลูกบนที่ไร่ ที่ดอน หรือที่สูง สามารถปลูกได้ในพื้นที่แห้งแล้ง และในสภาพที่ดอนหรือเป็นพื้นที่ตามไหล่เขา และในพื้นที่ที่ไม่สามารถทำนาแบบอาศัยน้ำฝนหรือชลประทานได้ มักปลูกในช่วงต้นเดือนมิถุนายน โดยข้าวพันธุ์เมล็ดฝ้ายเป็นข้าวไร่ที่มาจากทางภาคใต้ (จังหวัดพัทลุง) และข้าวพันธุ์เหนียวดำมังเป็นข้าวไร่ที่ปลูกมากบริเวณจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีสารแอนโทไซยานินที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง (Sripanidkulchai *et al.*, 2022) จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังข้างต้น จึงได้คัดเลือกข้าวทั้งสองพันธุ์มาเตรียมเป็นสารสกัดเพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษต่อไป

จากการศึกษาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวพื้นเมืองสองชนิดโดยสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ พบว่า การสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและเหนียวดำมังด้วยตัวทำละลาย 50%เอทานอลในสภาวะกรด ให้ปริมาณฟีโนลิครวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงที่สุด อาจเนื่องมาจากสารดังกล่าวสามารถละลายได้ดีในสารละลายกึ่งมีขั้ว นอกจากนี้การใช้กรดร่วมกับตัวทำละลายเพื่อสกัดแอนโทไซยานิน จะช่วยให้แอนโทไซยานินมีความคงตัวมากขึ้น เนื่องจากที่ pH ต่ำ แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของ flavylium cation ซึ่งกรดที่นิยมใช้ร่วมกับตัวทำละลาย ได้แก่ กรด HCl (Vongchitpinyo *et al.*, 2009) จากการศึกษาของ Bae และคณะ (2017) พบว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวสีดำ คือ สารละลายเอทานอล 50.78% ผสม HCl 0.60 % ซึ่งปริมาณแอนโทไซยานินรวมเพิ่มขึ้นเมื่อเปอร์เซ็นต์เอทานอลอยู่ในช่วง 40% ถึง 60% แต่ลดลงที่เปอร์เซ็นต์อื่น และเพิ่มขึ้นเมื่อเติมกรด โดยทั่วไปตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นกรดเป็นตัวทำละลายที่ดีสำหรับการสกัดแอนโทไซยานินจากพืช เนื่องจากกรดสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้แอนโทไซยานินเสถียร นอกจากนี้แอนโทไซยานินที่สกัดออกมาจะมีความเสถียรมากที่สุดที่ pH ที่เป็นกรดสูง (ค่า pH < 3) และค่อนข้างไม่เสถียรที่ค่า pH ที่เป็นกรดอ่อนถึงเป็นกลาง (Bae *et al.*, 2017) นอกจากนี้ได้ทำการแยกสารในกลุ่มแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสารสำคัญ C3G ในสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและสารสกัดข้าวเหนียวดำมัง มีค่าเท่ากับ 0.16±0.00 และ 0.16±0.00 mg/g ตามลำดับ จากการศึกษาก่อนหน้า พบว่า แอนโทไซยานินที่พบมากในข้าวมีสี คือ สาร C3G คิดเป็น 95% และ P3G คิดเป็น 5% จึงได้เลือกสาร C3G เป็นตัวชี้วัดปริมาณสารสำคัญ (Limtrakul *et al.*, 2019) เมื่อนำสารสกัดข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายสี่ชนิดไปทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยเทียบกับสารมาตรฐานวิตามิน C และวิตามิน E พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 50%เอทานอลในสภาวะกรดมีค่า IC50 ต่ำที่สุด ซึ่งแตกต่างจากการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังมีค่า IC50 เท่ากับ 25.04±1.67 µg/mL และ 19.25±0.05 µg/mL ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าข้าวที่ยังไม่ได้ผ่านการสกัดประมาณ 30 เท่า (ตารางที่ 4)

แสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดที่เหมาะสมสามารถเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทั้งในกลุ่มฟีโนลิครวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวม ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ได้สกัดข้าว 5 สายพันธุ์ ด้วยเอทานอล 50% พบว่าสกัดจากข้าวลืมผัวมีปริมาณสารฟีโนลิครวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (Teeranachaideekul *et al.*, 2018)

เมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์พบว่าสารสกัดข้าวทั้งสองชนิดไม่เป็นพิษที่ความเข้มข้น 1000 µg/mL และมีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างเม็ดสีและทำให้ผิวคล้ำได้ อย่างไรก็ตาม ผลการยับยั้งเอนไซม์ยังเป็นเพียงการทดลองที่วัดจากปฏิกิริยาการเกิดสี จึงควรทำการทดสอบกับเซลล์เพื่อเป็นการยืนยันผลต่อไป อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาก่อนหน้ามีรายงานว่าสารสกัดข้าวมีสีมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถเพิ่มจำนวนเคอราติโนไซต์ ลดการทำงานของเอนไซม์คอลลาเจนเนส ต้านการอักเสบ และลดการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Vitchit and Saewan, 2022) กล่าวโดยสรุป ข้อมูลที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้แสดงถึงศักยภาพของข้าวมีสีในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นปัจจัยในการทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้สร้างเม็ดสีได้ อีกทั้งยังไม่เป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะพัฒนาสารสกัดข้าวเมล็ดฝ้ายและข้าวเหนียวดำมังให้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ที่มีผลบวกต่อสุขภาพและเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เวชสำอาง นำไปสู่การเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบและการขยายผลในเชิงพาณิชย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

ผลงานนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากฝ่ายวิจัยและบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับความอนุเคราะห์วัตถุดิบข้าวพื้นเมืองจากโครงการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

References

Bureau of Nutrition, editors. Dietary reference intake for THAIS. Bangkok: A.V Progressive Limited Partnership Press; 2020.

Bae IY, An JS, Oh IK, Lee, HG. Optimized preparation of anthocyanin-rich extract from black rice and its effects on in vitro digestibility. Food Sci. Biotechnol 2017; 26(5): 1415–1422.

Finocchiaro F, Ferrari B, Gianinetti A. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. J. Cereal Sci 2010; 51: 28-34.

Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Curr. protoc. food anal. chem 2001; F1.2.1-F1.2.13.

Gong ES, Luo SJ, Li T, Liu CM, Zhang GW, Chen J, Zeng ZC, Liu RH. Phytochemical profiles and antioxidant activity of brown rice varieties. Food Chem 2017;227:432-443.

Goufo P, Trindade H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, pro-anthocyanidins,α-tocopherols, toco-trienols, γ-oryzanol, and phytic acid. Food Sci Nutr 2014; 2(2): 75-104.

Kitisin T, Saewan N, Luplertlop N. Potential anti-inflammatory and anti-oxidative properties of Thai colored-rice extracts. Plant Omics 2015; 8(1): 69-77.

Kolakul P and Sripanidkulchai B. Phytochemicals and anti-aging potentials of the extracts from *Lagerstroemia speciosa* and *Lagerstroemia floribunda.* Ind Crops Prod 2017; 109: 707–716.

Likhitwitayawuid K, Klongsiriwet C, Jongbunprasert V, Sritularak B, Wongseripipatana S. Flavones with Free Radical Scavenging Activity from *Goniothalamus tenuifolius*. Arch Pharm Res 2006; 29(3): 199-202.

Limtrakul P, Semmarath W, Mapoung S. Anthocyanins and Proanthocyanidins in Natural Pigmented Rice and Their Bioactivities. Phytochemicals in Human Health 2019. IntechOpen London; UK,

Maisuthisaku P, Changchub L. Effect of extraction on phenolic antioxidant of different Thai Rice (*Oryza Sativa* L.) genotypes. Int J Food Prop 2014; 17(4): 855-865.

Marto J, Neves A, Gonçalves LM, Pinto P, Almeida C, Simoes S. Rice Water: A traditional ingredient with anti-aging efficacy. Cosmetics 2018; 5(2): 1-12.

Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods 1983; 65: 55-63.

Nam SH, Choi SP, Kang MY, Koh HJ, Kozukue N, Friedman M. Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars. Food Chem 2006; 94: 613-620.

Pereira-Caro G, Cros G, Yokota T, Crozier A. Phytochemical profiles of black, red, brown, and white rice from the Camargue region of France. J Agric Food Chem 2013; 61(33): 7976-7986.

Posoongnoen S, Thummavongsa T. Some Chemical Compositions and Antioxidant Properties of Local Rice in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. BUSCIJ 2018; 23(2): 971-984.

Rice family Thailand. (2017). Retrieved March 17, 2020, from https://www.thairicedb.com/rice-detail.php?id=10.

Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G., and Berghofer, E. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. Food Chemistry 2011; 124(1): 132-140.

Sripanidkulchai B. and Fangkrathok N. Antioxidant, antimutagenic and antibacterial activities of extracts from *Phyllanthus emblica* branches. Songklanakarin J. Sci. Technol 2014; 36: 669–674.

Sripanidkulchaia B, Junlatat J, Tuntiyasawasdikul S, Fangkrathoka N, Sanitchon J, Chankaew S. Phytochemical and bioactivity investigation of Thai pigmented-upland rice: Dam-Mong and Ma-led-Fy varieties. Agr. Nat. Resour 2022; 56: 889-898.

Sueaman K, Pinwattana K, Paksee S, Arpsuwan A, Samang P, Jannoey P, *et al.* Determination of antioxidant capacity of Riceberry and Khao dok mali 105 cultivars. PSRU J. Sci. Tech 2019; 4(3): 95–108.

Teeranachaideekul V, Wongrakpanich A, Leanpolchareanchai J, Thirapanmethee K, Sirichaovanichkarn C. Characterization, biological activities and safety evaluation of different varieties of Thai pigmented rice extracts for cosmetic applications. PSA 2018; 45(3): 140-153.

Vitchit W and Saewan N. Antioxidant and Anti-aging activities of callus culture from three rice varieties. Cosmetics 2022; 9: 79-94.

Vongchitpinyo S, Chotirotvakin C, Tongchitpakdee S. Effect of Extraction Solvents on Total Phenolics, Total Flavonoids, Total anthocyanins and radical scavenging properties in grape peels and seeds. Proceedings of 47th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry, 2009 Mar 17-20; Bangkok, Thailand

Wasim AA, Naz S, Khan MN, Rehman SF. Assessment of heavy metals in rice using atomic absorption spectrophotometry-a study of different rice varieties in Pakistan. Pak. J. Anal. Environ.Chem 2019; 20 (1): 67-74.

Yodmanee S, Karrila TT, Pakdeechanuan P. Physical, chemical and antioxidant properties of pigmented rice grown in Southern Thailand. Int. Food Res. J 2011; 18(3): 901-906.

Zhao LJ., Liu W., Xiong SH, *et al.* Determination of total flavonoids contents and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf by near-infrared reflectance method. Int. J. Anal. Chem 2018: 8195784. doi.org/10.1155/2018/8195784.